

- For more records, click Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
- To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
- To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

☒ Select All☒ Clear Selections

Print/Save Selected

Send Results

Display Selected

Format

Free

1. ☒ 8/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

010473615

WPI Acc No: 1995-374935/199549

XRAM Acc No: C95-162410

Thrombolytically active plasmin/ plasminogen-activator  
compsn. - with pref. fibrinolytically active plasmin and tPA as  
plasminogen activator; useful for systemic and local application

Patent Assignee: IMMUNO AG (IMMO )

Inventor: EIBL J; PHILAPITSCH A; SCHWARZ H P

Number of Countries: 015 Number of Patents: 008

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 674906	A2	19951004	EP 95104556	A	19950328	199549 B
DE 4411143	A1	19951005	DE 4411143	A	19940330	199550
CA 2145841	A	19951001	CA 2145841	A	19950329	199605
JP 8040931	A	19960213	JP 9573045	A	19950330	199616
DE 4411143	C2	19960801	DE 4411143	A	19940330	199635
US 5776452	A	19980707	US 95410766	A	19950327	199834
AT 9500556	A	20010615	AT 95556	A	19950328	200137
AT 408614	B	20011215	AT 95556	A	19950328	200208

Priority Applications (No Type Date): DE 4411143 A 19940330

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

EP 674906 A2 G 9 A61K-038/49

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL SE

DE 4411143 A1 A61K-038/54

CA 2145841 A A61K-038/49

JP 8040931 A 7 A61K-038/48

DE 4411143 C2 8 A61K-038/54

US 5776452 A A61K-038/48

AT 9500556 A A61K-038/48

AT 408614 B A61K-038/48

Previous Publ. patent AT 9500556

Abstract (Basic): EP 674906 A

Claimed is a pharmaceutical compsn. having a thrombolytic effect and contg. plasmin and a plasminogen activator, at least partially in a free form (not as complex with plasmin and/or plasminogen), opt. with common pharmaceutical additives or carriers. Pref. the plasminogen activator is at least 30%, pref. 50% in a free form and the plasmin is fibrinolytically active. Also claimed is a prodn. method for the inventive compsn. by mixing plasminogen and/or plasmin with a plasminogen activator for the prodn. of plasmin. Pref. compsns. are used including plasminogens inactivated by virus. The plasmin pref. is produced in vitro from a plasminogen, (e.g. Lys-plasminogen) and a plasminogen activator. A treatment for thrombosis in mammals applying the claimed compsn. of plasmin, plasminogen activator and opt. plasminogens systemically or at the place of thrombosis is also claimed.

USE - The claimed compsn. is used for the systemic or local application in the treatment of thrombosis and for the prophylaxis of embolisms.

ADVANTAGE - Compared to prior art methods of providing plasmin, the new prepn. has an improved thrombolytic activity, can be produced cheaply and simply and can be administered safely and simply.

Dwg. 0/0

Title Terms: ACTIVE; PLASMIN; PLASMINOGEN; ACTIVATE; COMPOSITION; PREFER;  
FIBRINOLYTIC; ACTIVE; PLASMIN; PLASMINOGEN; ACTIVATE; USEFUL; SYSTEMIC;  
LOCAL; APPLY

Derwent Class: B04

International Patent Class (Main): A61K-038/48; A61K-038/49; A61K-038/54

International Patent Class (Additional): A61K-035/14; A61K-035/16;

A61K-038/46; A61K-038/49; A61K-038-48

File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2005 Thomson Derwent. All rights reserved.

☒ Select All☒ Clear Selections

Print/Save Selected

Send Results

Display Selected

Format

Free

© 2005 Dialog, a Thomson business

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-40931

(43) 公開日 平成8年(1996)2月13日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

A 6 1 K 38/48

識別記号

ACB

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

38/46

A 6 1 K 37/ 547

ACB

37/ 47

審査請求 未請求 請求項の数31 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-73045

(22) 出願日 平成7年(1995)3月30日

(31) 優先権主張番号 P 4 4 1 1 1 4 3 - 6

(32) 優先日 1994年3月30日

(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 591154762

イムノ・アクチエンゲゼルシャフト

IMMUNO AKTIENGESELL  
SCHAFT

オーストリア、アー-1221ヴィーン、イン  
ダストリーシュトラセ67番

(72) 発明者 ヨハン・アイブル

オーストリア、アー-1180ヴィーン、グス  
タフ・ツェルマーク・ガッセ2番

(72) 発明者 アントン・フィラピッチュ

オーストリア、アー-2490エーベンフル  
ト、ハンス・クードリッヒ・ガッセ5番

(74) 代理人 弁理士 青山 葆 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血栓症用剤

(57) 【要約】

【目的】 簡単かつ安全に施すことができる血栓症症状  
の療法のための組成物を提供する。

【構成】 プラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤  
を含む血栓溶解効果を持つ医薬組成物は全身投与ならび  
に血栓症部位への局所投与のために有用である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 プラスミンと少なくとも部分的に遊離型、即ちプラスミンとの複合体でないプラスミノゲン活性化剤および／またはプラスミノゲンを要すれば通常の医薬添加剤および／または担体とともに含む血栓溶解効果を持つ医薬組成物。

【請求項 2】 プラスミノゲン活性化剤の少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 50%が遊離型として存在することを特徴とする請求項 1 の組成物。

【請求項 3】 プラスミンがフィブリン分解性活性プラスミンであることを特徴とする請求項 1 または 2 の組成物。

【請求項 4】 プラスミンがプラスミノゲンから生体外で得たプラスミンであることを特徴とする請求項 1 から 3 までのいずれかの組成物。

【請求項 5】 プラスミンが安定型で存在することを特徴とする請求項 1 から 4 までのいずれかの組成物。

【請求項 6】 組成物がさらに加えてプラスミノゲン 1 種または数種を含むことを特徴とする請求項 1 から 5 までのいずれかの組成物。

【請求項 7】 組成物が l y s-プラスミノゲンを含むことを特徴とする請求項 6 の組成物。

【請求項 8】 プラスミノゲン活性化剤が t P A、ウロキナーゼ、プロウロキナーゼとストレプトキナーゼから構成される群から選択されるプラスミノゲン活性化剤 1 種または数種を含むことを特徴とする請求項 1 から 7 までのいずれかの組成物。

【請求項 9】 プラスミン／プラスミノゲン活性化剤のモル比が 1/0.01 から 1/3 までであることを特徴とする請求項 1 から 8 までのいずれかの組成物。

【請求項 10】 組成物がプラスミノゲン活性化剤として少なくとも t P A を含むことを特徴とする請求項 1 から 9 までのいずれかの組成物。

【請求項 11】 組成物がプラスミンおよび t P A を 1:0.1 から 1:1000、好ましくは 1:0.5 から 1:125、特に約 1:100 C U/μg の比率で含むことを特徴とする請求項 1 から 10 までのいずれかの組成物。

【請求項 12】 プラスミンとプラスミノゲンとのモル比が 1:0.01 から 1:1 までであることを特徴とする請求項 6 から 11 までのいずれかの組成物。

【請求項 13】 血栓症の処置および塞栓症の予防のための全身投与または局所投与のための請求項 1 から 12 までのいずれかの組成物の使用法。

【請求項 14】 血栓症の処置および塞栓症の予防のための全身投与または局所投与のための医薬を生産するためのプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤の使用。

【請求項 15】 血栓症および類似症状発現の処置または予防における局所投与のための投与システム作製のた

めの請求項 1 から 12 までのいずれかの組成物またはプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤の使用。

【請求項 16】 プラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤に加えてプラスミノゲン 1 種または数種を採用することを特徴とする請求項 13 から 15 までのいずれかの使用法。

【請求項 17】 血管内に導入することのできるカニューレまたはカテーテルの型における装置を使用することを特徴とする請求項 13 から 15 までのいずれかの使用法。

【請求項 18】 成分であるプラスミノゲンおよび／またはプラスミンをプラスミノゲン活性化剤と混合し、要すればプラスミンを形成するためにインキュベートすることを特徴とする請求項 1 から 12 までのいずれかの組成物の製造方法。

【請求項 19】 混合を適当な担体中で、要すれば他の通常の医薬的添加剤とともに行うことを特徴とする請求項 18 の方法。

【請求項 20】 組成物を混合後に適当な安定化剤の添加により安定化させることを特徴とする請求項 18 または 19 の方法。

【請求項 21】 組成物を安定化後に公知方法により所期の投与型に変換することを特徴とする請求項 18 から 20 までのいずれかの方法。

【請求項 22】 組成物を凍結乾燥することを特徴とする請求項 21 の方法。

【請求項 23】 組成物の製造を血栓溶解療法の過程の直前にまたは血栓溶解療法の間に行うことを特徴とする請求項 18 から 22 までのいずれかの方法。

【請求項 24】 各成分の混合を血栓症部位に導入すべき装置内で行うことを特徴とする請求項 18 から 23 の方法。

【請求項 25】 混合を各成分の同時または連続導入により、要すれば適当な溶媒中で、行うことを特徴とする請求項 24 の方法。

【請求項 26】 ウイルス不活化プラスミノゲンを使用することを特徴とする前記請求項のいずれかの組成物、使用および／または方法。

【請求項 27】 プラスミンをプラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤から生体外で製造することを特徴とする請求項 1 から 26 のいずれかによる組成物、使用および／または方法のためのプラスミンの製造方法。

【請求項 28】 プラスミノゲンが l y s-プラスミノゲンであることを特徴とする請求項 27 の方法。

【請求項 29】 プラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤とを接触させ、所期のプラスミン活性が得られるまでインキュベートすることを特徴とする請求項 27 または 28 のいずれかの方法。

【請求項 30】 l y s-プラスミノゲンをプラスミノゲン活性化剤と 15 から 37℃までの温度で少なく

とも30秒間インキュベートすることを特徴とする請求項29の方法。

【請求項31】 請求項1から13までのいずれかの組成物または各成分であるプラスミン、プラスミノゲン活性化剤および要すればプラスミノゲンを血栓症症状を発現している哺乳類に全身投与するか血栓症部位に投与することを特徴とする哺乳類における血栓症症状の処置のための方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は血栓溶解剤（血栓症用剤）医薬的組成物に関する。血栓症とは血管内における病理的血液凝固であって、殆どは静脈であるが動脈を含む血管の閉塞に到るものと理解されている。それ故に、血管の血栓症においては青いしみまたは浮腫ならびに疼痛および倦怠感のような血管鬱血の兆候が現れる。血栓症は腎臓、脳または肺臓（塞栓症）のような器官への血塊の移動の危険のためにも殊に危険である。血栓症の原因は血小板の蓄積ならびに血液凝固制御の障害（例えば抗トロンビンIIIの欠損により）ならびに例えば

【0002】血栓症の処置は2種の異なる方法で行われる。すなわち、（1）血塊の医薬的溶解（血栓溶解）によるものおよび（2）特に非溶解可能性の血塊については、外科的手術法によるものである。これに加え、

（1）と（2）との組合せの可能性も明らかに存在する。前記（1）に言及した医薬的溶解、すなわち血栓溶解療法は血栓症の傾向がある患者の処置に特に有効である。血管内フィブリンはそれによって溶解し、血栓が縮小するかまたは除去される。これに関し、血栓溶解療法の成功はできる限り早い時点において血球の流れが回復されるような血栓の迅速な溶解に少なからず依存する。

【0003】塞栓症的にまたは血管の血栓症閉塞の場所に発生した静脈および動脈の血栓はフィブリンを含む。このフィブリンはフィブリン溶解的に活性化酵素であるプラスミンにより分解され、それによって血栓が溶解される。プラスミンはセリンプロテイナーゼである蛋白質分解酵素の名称であって、それはフィブリンを含む血塊を崩壊して溶解性生産物（フィブリノペプチド）にすることができ、それでフィブリン溶解剤（血栓溶解剤）として活性である。必要な場合には、プラスミンは血塊のある部位で不活性な前駆体であるプラスミノゲン、すなわちプラスミンのチモーゲンから発生するが、これは血漿mLにつき約200mgの濃度で存在する。

【0004】プラスミノゲンのプラスミンへの活性化は種々の血漿因子によって、またはウロキナーゼまたは血管壁-PAと同一でもある組織-PA（tPA、組織プラスミノゲン活性化因子）のようなセリンプロテ

ナーゼに属する特定のプラスミノゲン活性化剤によって起こされる。tPAは分子量72000を持ち、ジスルフィド橋により安定化されている種々の構造的要素（部位）、すなわちフィンガー、成長因子、クリングル2個およびセリンプロテイナーゼ部位から構成されている。このクリングル部位の力で、tPAはフィブリン血塊に結合し、これにより活性化され、これもここに結合しているプラスミノゲンを分解する。例えばストレプトコッカス属からの外来性活性化剤であるストレプトキナーゼは、それ自体ではキナーゼに典型的な、あるいは蛋白質分解的な、活性を持たないが、プラスミノゲンとコンプレックスを形成した後にのみプラスミノゲンに酵素的に作用する（J. Biol. Chem.、253巻（1987年）1090～1094頁）。

【0005】

【従来の技術】それ故、血栓溶解療法の間にはプラスミノゲン活性化剤として作用する酵素を投与することが普通であって、そのような所謂、血栓溶解的に活性化酵素は、例えば、tPA、ウロキナーゼ、プロウロキナーゼ、ストレプトキナーゼまたはスタフィロキナーゼであることができる。V. V. KakkarとF. M. Scully、Haemostasis、18巻：補1（1988年）127～138頁はプラスミノゲンの点滴と後続する生体内におけるプラスミノゲンの活性化のためのストレプトキナーゼの点滴による患者の血栓溶解処置を、ストレプトキナーゼ単独による患者の処置と比較して記載している。これによって、プラスミノゲンおよびプラスミノゲン活性化剤の連続投与はストレプトキナーゼの単独投与よりも優れていることが証明された。

【0006】血栓溶解療法のために天然のglu-プラスミノゲンの代わりにlys-プラスミノゲンを投与することはA. Schoppmannなど、Haemostasis、18巻：補1（1988年）157～163頁に提唱されている。lys-プラスミノゲンは天然のプラスミノゲン（glu-プラスミノゲン）のNH<sub>2</sub>-一端からポリペプチドの切断により得られる蛋白質分解的に修飾された型について文献上で用いられる一般的呼称である。現在まで、リジン、メチオニンおよびバリンが既知のlys-プラスミノゲンのN-端アミノ酸として検出されている。90000～94000に分布するglu-プラスミノゲンの分子量とは対照的に、lys-プラスミノゲンには約80000が示されている。lys-プラスミノゲンは高い親和性でフィブリンに吸着し、プラスミノゲン活性化剤によって、より急速にプラスミンに変換されることができるという利点がある。lys-プラスミノゲンは血漿から、例えば感染剤の伝達を排除するためにウイルス不活化処理して製造される。

【0007】プラスミノゲンとプラスミノゲン活性

化剤との併用は両成分の複合体の型においても行うことができる。Y. TakadaとA. Takada、Thrombosis・Research、54巻(1989年)133~139頁はストレプトキナーゼとプラスミノゲンとの等モル複合体の形成を記載している。この複合体はフィブリン存在下にプラスミンの迅速な形成をもたらす。しかし、フィブリンまたはフィブリノーゲンの不在下にはストレプトキナーゼープラスミノゲン複合体のストレプトキナーゼープラスミン複合体への不適当な遅い変換のみが起きる。プラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤、すなわちスタフィロキナーゼとの複合体はEP-B-0337817からも公知である。複合体は等モル比で製造され、単離されるので遊離のスタフィロキナーゼは存在しない。プラスミノゲンのプラスミンへの部分的な変換は複合体形成によって起きるので、そのためスタフィロキナーゼ／プラスミノゲン(プラスミン)複合体は効果的に存在する。

【0008】フィブリン分解的に活性な酵素プラスミンの直接的な投与を所望する時には、このようにしてプラスミノゲンを生体外でプラスミンに変換する。それによれば、自動分解を防ぐため、プラスミンを通常は一般的な安定化剤の添加によって安定化させる。プラスミンの製造は、例えばWO-A-93/07893に記載されているようにして、実施することができる。この方法でプラスミノゲンと固定化したプラスミノゲン活性化剤とを接触させて活性化プラスミンを製造する。こうしてプラスミン製剤がプラスミノゲン活性化剤を含まないことを保証するための試みが行われている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は改良された血栓溶解効果を持ち、簡単かつ費用効率的に製造され、簡単にかつ安全な方式で利用することができるプラスミン含有医薬的製剤を提供することである。この目的は本発明により解決される。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明の主題は請求項1によるプラスミンと少なくとも部分的には、好ましくは少なくとも30%、一般的には少なくとも50%の遊離型、即ち非複合体結合型でのプラスミノゲン活性化剤とを通常の医薬的な添加剤および／または担体とともに含む血栓溶解効果を持つ医薬的製剤である。その好適な態様は請求項2から12までの主題である。

【0011】他の主題は請求項13による全身または局所投与のための本発明による組成物の使用および請求項14によるプラスミノゲン活性化剤および、要すれば薬剤製造のためのプラスミノゲンを伴う、プラスミンの使用である。これらの使用の好適な態様は請求項15から17までの主題である。

【0012】本発明の別の主題は請求項18による本発明による組成物を製造するための方法であって、各成分

であるプラスミノゲンおよび／またはプラスミンとプラスミノゲン活性化剤とを混合し、さらに要すればプラスミンを形成するためにインキュベートする、ことを特徴とするものである。本方法の適当な態様は請求項19から25までの主題である。

【0013】本発明による組成物、使用および／または方法の適当な態様は請求項26の主題である。本発明の別の主題は請求項27による本発明による組成物、本発明による使用または本発明による方法の主題のためのプラスミンの製法である。これらのものの適当な態様は請求項28から30までの主題である。他の主題は請求項31による哺乳類での血栓症症状発現の処置のための方法である。

【0014】プラスミンとは、本発明の「活性プラスミン」、すなわち、フィブリン分解的に活性なプラスミン、例えば、そのチモーゲンであるプラスミノゲンから生体外で得られ、要すれば安定化されている、プラスミンであると理解される。驚くべきことに、本発明による組成物はプラスミンを別にしてプラスミノゲン活性化剤を少なくとも部分的には遊離型で含むが、これにはプラスミン単独の使用により得られる効果を超える優れた血栓溶解活性を示すことが発見された。例えば外来性活性化剤であるストレプトキナーゼはプラスミン(プラスミノゲン)との複合体形成後のみプラスミノゲンに作用するとする前記技術水準に基づいては期待されるべきものではなかった。

【0015】本発明による組成物について(活性)プラスミンの直接的なフィブリン溶解の効果のみならず、体内および／または血栓内に存在する内因性プラスミノゲンを容易に活性化することのできる少なくとも部分的に非結合の、それ故に、非複合体形成型におけるプラスミノゲン活性化剤の効果の持続的な促進を開発することは可能である。プラスミンおよび少なくとも部分的には遊離の型で存在するプラスミノゲン活性化剤を含む本発明による組成物が実質的に、より効果的な結果および全体としてプラスミンの単独投与と比較してもっと迅速な血栓溶解を導くことは驚くべきことであると言わなければならない。

【0016】脳血栓を持つ患者で本発明の組成物が血栓溶解療法の成功率を明らかに改善することが確認されている。

【0017】本発明による組成物は全身または局所、例えば血栓症および／または塞栓症の部位、に直接に投与することができる。本発明により製剤を、例えば動脈内のような対応する血管に挿入されたカテーテルを用いて、血栓症および／または塞栓症の部位に直接適用することは望ましいことである。この方法では全身投与に関連するかもしれない副作用を避けることもできる。

【0018】それ故、本発明の主題は血栓症および／または塞栓症および関連する症状発現の処置および予防に

おける全身または、好ましくは局所（血栓症および／または塞栓症の部位に）投与のためにプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤を含む本発明による組成物の使用でもある。本発明の別の主題は血栓症および／または塞栓症および関連する症状発現の処置および予防における、例えば薬剤のような全身または好ましくは局所投与システムの作製のためのプラスミノゲン活性化剤を共に含むプラスミンの使用である。

【0019】本発明の別の主題は本発明による組成物またはプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤、例えば血栓症および塞栓症および類似の症状発現の処置および予防における局所投与のための装置に基づく投与システムの製造または供用のための使用である。本発明の主題は哺乳類（ヒトおよび動物）の血栓症状発現の処置および予防の方法であって、それによれば本発明による組成物または成分であるプラスミン、プラスミノゲン活性化剤および要すればプラスミノゲンが全身または局所、例えば血栓症および／または塞栓症の部位に投与される。好ましくは、処置は血栓溶解療法の前、最中または後に行う。

【0020】このプラスミノゲン活性化剤は本発明によれば少なくとも部分的には遊離型で、すなわち全部がプラスミンおよび／またはプラスミノゲンの複合体としてでなく、使用する。好ましくは、局所投与のための装置は血管に導入するためのカニューレまたはカテーテルである。そのようなカニューレまたはカテーテルは血管内に導入するために通常に用いられるカニューレまたはカテーテルで、これに適する通常の型であり、およびこれに適する通常の物質製のものである。

【0021】好ましくは、血管内に導入するためのカニューレまたはカテーテルである装置は本発明による組成物または成分であるプラスミン、プラスミノゲン活性化剤またはそれらの製造のための対応する出発物質を含むことができる。あるいは、好ましくは本発明による組成物または投与システムは、例えば成分であるプラスミノゲンおよび／またはプラスミンならびにプラスミノゲン活性化剤は、特にカニューレまたはカテーテルである装置から同時または順次に導入されるが、ここではこの装置は好ましくは体内に本発明による組成物または投与システムが血栓症部位またはその直接的な周辺に達するようにして用いられる。好ましくは、本発明による組成物はさらに、特に *lys*-プラスミノゲンである、プラスミノゲン 1 種または数種をも含む。

【0022】このことは各成分であるプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤についても当てはまる；好ましくは、プラスミノゲン 1 種または数種はさらに共用されて、投与は好ましくは同時にまたは短時間内に順次に行うこともできる。医薬組成物のための担体および／または添加剤としてまたは各成分の投与のための担体（液体）として、この型の組成物および投与について一

般的に公知で通常の医薬的基剤、希釈剤および／または添加剤が適当である。

【0023】以下に示すプラスミン、プラスミノゲン活性化剤および／またはプラスミノゲンの好適な量および量比は本発明による医薬的組成物に関するが、例えば、好ましくは血栓症および／または塞栓症の部位に導入すべきカニューレまたはカテーテルである装置を用いる本発明による使用における各成分の投与にも関する。プラスミン／プラスミノゲン活性化剤のモル比は、好ましくは  $1/0.01$  から  $1/3$  までである。プラスミンおよび tPA は好ましくは  $1:0.1$  から  $1:1000$ 、殊に  $1:0.5$  から  $1:125$ 、および一次的には約  $1:4$  (CU/ $\mu$ g) の比率で使用される。ここでは、単位 CU はカゼインからトリクロロ酢酸可溶性断片を切断するプラスミンのカゼイン分解活性に対応し、280 nm での吸光度の分光学的測定から算出できる。

【0024】プラスミン製剤中の遊離および／または非複合型のプラスミノゲン活性化剤の検出法は、例えばゲルクロマトグラフィー、SDS 電気泳動（非還元性条件下で）または固定化リジンへのプラスミンの吸着による通常の方法で行うことができる。本発明により、プラスミノゲン 1 種または数種をプラスミンおよびプラスミノゲン活性化剤に加えて使用した時には、プラスミンとプラスミノゲンとのモル比は好ましくは  $1:0.01$  から  $1:1$  に達する。本発明による組成物はプラスミンを、好ましくは全組成物に対して 1 から 95 重量部、特に 10 から 30 重量部の量で含む。プラスミノゲン活性化剤と要すれば添加するプラスミノゲンの量は前記した好適な量比から確定される。

【0025】全身ならびに局所投与すべき本発明による組成物の用量は、症状の重篤度、患者の一般健康状態および特にまた血栓症の症歴、すなわち、例えば以前に起きた血栓症の症状発現の頻度および特性、によって決定する。同じことは各成分の投与、例えばカテーテルまたはカニューレを用いる本発明による使用、についても言える。プラスミノゲン活性化剤として、好ましくは tPA、ウロキナーゼ、プロウロキナーゼおよびストレプトキナーゼからなる群から選択された活性化剤、組合せおよび／またはキメラも使用できる。プラスミノゲン活性化剤は本発明による組成物中に少なくとも部分的には非複合型で存在する。

【0026】本発明による組成物はこの型の組成物に対して慣習的に使用される公知の方法に従って、成分であるプラスミン、プラスミノゲン活性化剤および、要すればプラスミノゲン 1 種または数種を、好ましくは攪拌する時には、これに適する容器内で混合することによって製造することができる。意図する投与型に依存して混合は担体としても適当な希釈剤（溶媒）、例えば点滴溶液、中で行うことができるが、または医薬的に許容し

うる溶媒中で、要すれば他の添加剤および／または後続する安定化のための担体とともに、行うことができる。この方法で得られた製剤またはさらに処理すべき混合物は、好ましくは適当な公知の安定化剤、例えばホスホリピド、炭水化物、アルブミンのようなもの、の添加によって安定化させる。所望の投与形態に依存して、例えば好適には凍結乾燥のような、さらに別の方法手段を混合および後続する安定化による製造の後に続けることもできる。

【0027】驚くべきことにプラスミンおよび／またはプラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤との本発明による組成物の製造のためのインキュベーションは簡単な方法で行うことができることが発見された。このインキュベーションは過剰の複合体形成を避けるために通常は非常に短時間のものである。技術水準の討論における概説のために指摘したように、ある種の外来性活性化剤、例えばストレプトキナーゼ、は複合体形成後にのみプラスミノゲンに酵素的に作用するので、このことは殊に驚くべきことである。

【0028】それ故、本発明による組成物は血栓溶解療法の過程で意図する投与の直前に製造するのが最適であるが、または血栓溶解療法の間、特に点滴溶液の型で投与する時または、例えば血栓症部位に導入するための装置、例えばカニューレまたはカテーテル、を用いて形成することができる。反応時間が短いために、本発明による製剤は血栓溶解療法の間、例えば血栓症部位に導入するためのカニューレまたはカテーテルのような装置、例えば本発明による各成分を同時的または迅速かつ順次に、特に適当な希釈剤中で供給できるものの中で製造することもできる。装置（カテーテルまたはカニューレ）内への流入は、好ましくは反応時間が少なくとも30秒、特に約1分、である十分な反応時間になるような速度で、組成物が得られるまで、すなわち製造された本発明による完成製剤が投与部位に達するまで行う。

【0029】前記のように、l y s-プラスミノゲンは、特に本発明による組成物がプラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤との反応によって製造される時に使用される。好ましくは、プラスミノゲンはウイルス不活化したものである。プラスミノゲンをプラスミノゲン活性化剤と接触させ、好ましくは15℃から37℃までの温度、特に室温で、通常は少なくとも30秒間、好ましくは少なくとも1分間、所期のプラスミン活性が得られるまでインキュベートする。インキュベーション時間はプラスミノゲンとプラスミノゲン活性化剤の量のみならず、例えば本発明によれば可能な限り避けるべきであるプラスミノゲン活性化剤との複合体形成の程度により決定する。

【0030】最適化実験はt P A（CU/μgの比率=1:4）100mgを加えて用いたl y s-プラスミノゲン（25CU/mLの濃度）の少なくとも50%

が、37℃でのインキュベーション時間2分後には活性化プラスミンに変換されることを示した。プラスミンの形成速度はl y s-プラスミノゲンの濃度の増大によりおよび／またはt P Aにより加速することができる。

【0031】本発明の構成において、本発明による組成物の製造のためまたは本発明による各成分の投与のための包装単位の型におけるキットを本発明による製剤を全身投与または、特に局所投与直前に、製造するために特に適当な血栓症部位に導入さるべき適当な装置とともに供用することもできる。キットは容器少なくとも2個からなり、各々は本発明による製剤の製造または本発明による投与のために必要な成分少なくとも1種を含む。その際、容器の一つは、例えば活性プラスミン形成成分または既に活性のある、好ましくは安定化されたプラスミンまたはプラスミンのチモーゲン、即ちプラスミノゲン、好ましくはl y s-プラスミノゲンを含み、別の容器は第2成分としてプラスミノゲン活性化剤であって少なくとも部分的にはプラスミンとは非複合の遊離型であるものを含む。

【0032】しかしながら、このキットは各容器がプラスミン、プラスミノゲン活性化剤およびプラスミノゲンからなる群からの一成分を含む容器3個からなることもできる。別の態様において、このキットは1個は活性プラスミンを、他方は成分プラスミノゲンおよびプラスミノゲン活性化剤を含んでいる容器2個から構成されることもできる。

【0033】

【実施例】ここで、本発明を以下の実施例によって、それを限定するものとしてではなくさらに詳述する。

【0034】プラスミンのカゼイン分解活性の測定  
カゼインを燐酸緩衝液（67mM、pH7.4）中の4%溶液とする。カゼイン溶液2.0mLを燐酸緩衝液1.6mLおよびサンプル0.4mLと混合し、37℃で30分間インキュベートする。その後、15%トリクロロ酢酸6mLの添加により非分解カゼインを沈殿させる。上清液の280nmにおける吸光度を測定する。カゼイン分解活性は次式により計算する：

【数1】 $E_{280} \times 16.3 \times \text{サンプル希釈度} = \text{CU} / \text{mL}$

【0035】プラスミンのアミド分解活性の測定  
クロモーゲン基質S2403（Chromogenix社）をプラスミンによりアミド分解的に切断する。そこでp-ニトロアニリンが放出されるので、これを405nmの吸光度として分光光学的に測定することができる。測定値を標準プラスミン（Chromogenix社、プラスミン）と比較して評価する。

【0036】実施例1

本発明による組成物を製造する。EP0353218によってl y s-プラスミノゲンを製造し、EP015



9311によるウイルス不活化を行い、次に tPA (Actilyse、Boehringer・Mannheim) とともに 0.5 mM トリス/NaCl 緩衝液 (pH=7.4) の中でインキュベートした。試験管内で各 2 成分の溶液等量を種々の濃度で混合した。インキュベーション混合物内の lys-プラスミノーゲンの濃度は 1.6、6.2、12.5、25 および 50 CU/mL であった。tPA の量は CU/μg の比率が 1:4 になるように選択した。インキュベーション時間は 2 分および/または 6 分であった。その後、プラスミン活性をアミド分解法で測定した。結果を次表に示す。

表: tPA 存在下の活性プラスミン製造

lys-プラス ミノーゲン CU/mL	tPA μg/mL	プラスミン/lys- プラスミノーゲン (%) のインキュベーション	
		2分間	6分間
1.6	6.4	15	43
6.2	24.8	30	69
12.5	50	51	69
25	100	55	64
50	200	88	56

#### 【0037】実施例 2

別の実験で、本発明による製剤を連続インキュベーションによって製造した。リンゲル液 25 mL 中の lys-プラスミノーゲン 2500 CU とリンゲル液 125 mL 中の tPA 50 mg とを調製した。溶液を同時に同じ比率で医薬製剤を血管中に医療用に投与するために通常に

使用されるカテーテル中に導入した。カテーテルは長さ 1.5 m で容積 0.5 mL であった。流速は毎秒 30 mL であった。プラスミン活性は溶液の流出後にアミド分解法で測定した。製剤の連続製造を 45 分間にわたって観察した。tPA 存在下におけるプラスミノーゲンのプラスミンへの変換は全観測期間の間では殆ど完全 (98.6%) であることが示された。

#### 【0038】実施例 3

血栓溶解療法を実施例 1 により新たに製造した本発明による組成物を用いて施した。頸動脈塞栓症の患者 20 名を本発明による製剤の局所投与による研究の中で処置し、これをプラスミノーゲン活性化剤のみによるものと比較した。新規に製造した活性プラスミンおよび tPA (Actilyse、Boehringer・Mannheim 社) との混合物を本発明による製剤として使用した。lys-プラスミノーゲン (Immuno・AG 社) 2500 CU と tPA 10 mg とを各々 0.9% NaCl の 25 mL 中に溶解し、同じ比率で同時かつ並行して点滴ポンプ 2 個からマイクロカテーテルへ 1 時間かけて導入した。比較のためには、tPA (2 時間に 20 mL) のみを点滴した。診断アンジオグラフィーにより血栓症部位での血栓溶解を 15 分間隔で監視した。本発明による製剤が 9 例中の 8 例では平均 45 分間後には完全な血栓溶解をもたらすことが示された。tPA 単独使用による比較実験では溶解は 11 例中の 8 例のみで完全であり、処置時間は 2 倍の長さであり、平均溶解時間は 103 分間であって 2 倍以上の長さであった。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 61 K 37/54

(72)発明者 ハンス・ピーター・シュヴァルツ  
オーストリア、アー-1180 ヴィーン、シン  
トラークッセ 32 番